

# ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ЛИПОФИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ

И.А. Кравец, А.И. Матерн

*ФГАОУ ВПО «Уральский федеральный университет  
имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург*

В настоящее время особую актуальность получили исследования, связанные с развитием окислительного стресса у людей, вызванного накоплением в организме свободных радикалов. Вещества, способные снижать уровень свободных радикалов и защищать макромолекулы живой клетки, получили название антиоксидантов. Исследование антиоксидантов проводится в двух направлениях: определение состава веществ, способных выполнять функции антиоксидантов, и определение общих антиоксидантных свойств объектов. Определения только состава антиоксидантов, как правило, недостаточно, чтобы судить об антиоксидантных свойствах в целом.

Оценка общей антиоксидантной активности того или иного объекта осуществляется с помощью интегральных методов. В их основе обычно лежат реакции взаимодействия антиоксидантов с долгоживущими свободными радикалами, которые служат прототипом свободных радикалов, образующихся в живой клетке. Такие методы имеют ряд особенностей, которые ограничивают возможности их применения (дорогостоящее оборудование и реактивы, значительные затраты времени).

Взаимодействие антиоксидантов со свободными радикалами и активными кислородными соединениями ( $O^{2-}$ ,  $HO^{\cdot}$ ,  $H_2O_2$ ,  $O$  и др.) сопровождается передачей электрона и, следовательно, имеет электрохимическую природу. В связи с этим представляется целесообразным изучать взаимодействие антиоксидантов и активных кислородных соединений с использованием электрохимических методов.

Ранее коллективом разработан метод потенциометрического определения антиоксидантной активности в водных растворах с применением медиаторной

системы. Медиаторная система представляет собой смесь окисленной и восстановленной форм одного и того же вещества, способных обратимо превращаться на рабочем электроде. При введении вещества с антиоксидантными свойствами в раствор протекает химическая реакция между окисленной формой медиатора и антиоксидантом, которая изменяет потенциал системы и по величине изменения судят об интегральных антиоксидантных свойствах.

Медиаторная система должна отвечать ряду требований: термодинамическая возможность протекания химической реакции реагента с основными антиоксидантами, обратимость электродной реакции медиаторной системы, быстрое установление равновесного потенциала, Нернстовская зависимость потенциала от изменения концентрации компонентов системы и достаточно большая скорость реакции с основными антиоксидантами. К настоящему моменту, поиск медиаторной системы для водных сред, соответствующей этим требованиям, привел к выбору системы  $K_4[Fe(CN)_6]/K_3[Fe(CN)_6]$ , стандартный потенциал которой относительно Н.В.Э. составляет 0,36 В. Кроме того, данная медиаторная система является окислителем по отношению к большинству антиоксидантов. Полученные потенциометрические результаты удовлетворительно коррелируются с теоретическими данными и с результатами, полученными другими методами. Однако данный метод разработан только для водных сред и позволяет анализировать только водорастворимые антиоксиданты. Однако, исследования жирорастворимых антиоксидантов в настоящее время очень актуальны, так как они функционируют в клеточных мембранах и липопротеинах крови.

Целью настоящей работы является разработка на основе вышеуказанной методологии потенциометрического метода анализа жирорастворимых антиоксидантов.

Проблема разработки потенциометрического метода анализа липофильных антиоксидантов заключается в сложности буферирования, а так же в том, что медиаторная система  $K_4[Fe(CN)_6]/K_3[Fe(CN)_6]$  нерастворима в апротонных средах.

Поставленная цель может быть реализована тремя путями: применение солюбилизированных систем и разработка эмульсий с медиатором  $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$  в водной фазе, а так же исследования в гомогенных апротонных средах с применением новых медиаторов.

Для достижения указанной цели необходимо решить следующие задачи:

- рассмотреть возможности определения антиоксидантной активности в гомогенных, солюбилизированных средах и эмульсиях;
- разработать гомогенную систему для потенциометрического определения антиоксидантной активности в апротонных средах с выбором нового медиатора;
- исследовать и выбрать растворители для создания эмульсий и условия для солюбилизаторов;
- исследовать антиоксидантную активность индивидуальных веществ полифенольной природы;
- исследовать реакции взаимодействия антиоксидантов с медиаторной системой в гомогенных, солюбилизированных средах и эмульсиях.

Предварительно была исследована антиоксидантная активность  $\alpha$ -токоферола в мицеллярной системе, полученной путем замены растворителя. В качестве растворителя был выбран этанол. Медиаторная система  $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ , антиоксидант: спиртовой раствор  $\alpha$ -токоферола. Полученные результаты удовлетворительно коррелируются с теоретическими данными и с результатами, полученными другими методами.

Расчетный и экспериментально полученный графики зависимости потенциала от  $\lg$  соотношения концентраций  $K_3[Fe(CN)_6]$  и  $K_4[Fe(CN)_6]$  и эквивалентной концентрации  $\alpha$ -токоферола приведены на рисунке.

Результаты определения стехиометрических коэффициентов реакции  $\alpha$ -токоферола с медиаторной системой  $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$  приведены в таблице 1. В таблице 2 представлены результаты исследования антиоксидантной активности (АОА) 0,01 М и 0,005 М модельных растворов  $\alpha$ -токоферола методом «введено-найдено».

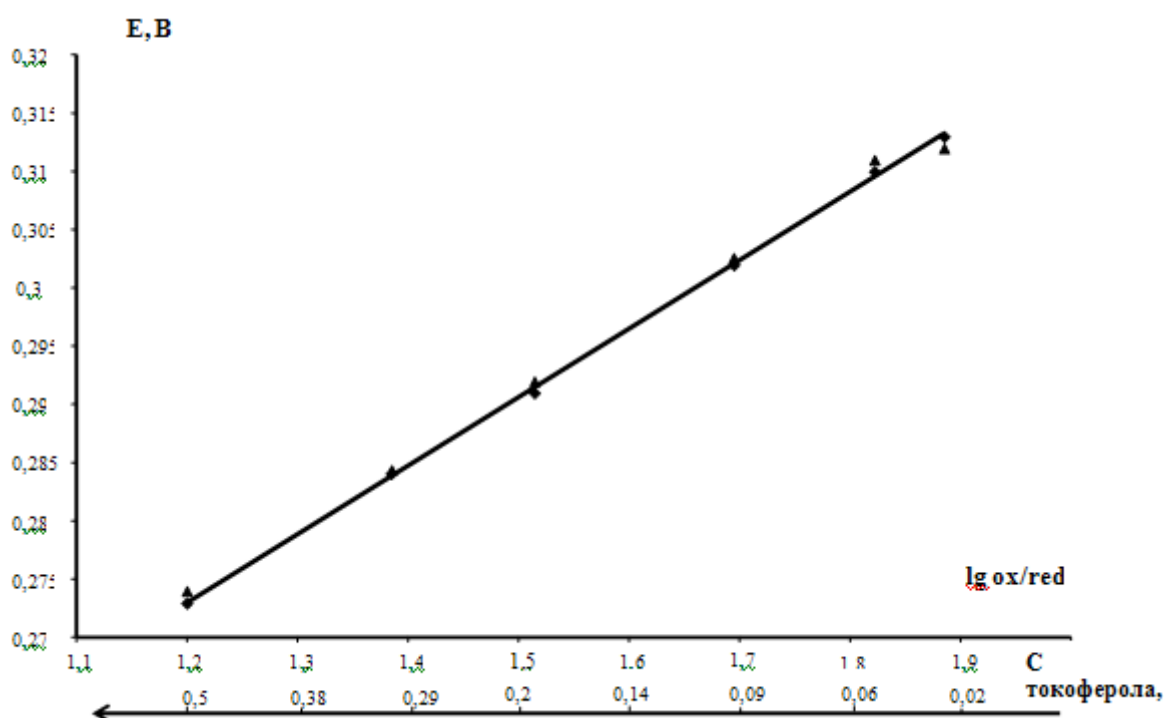
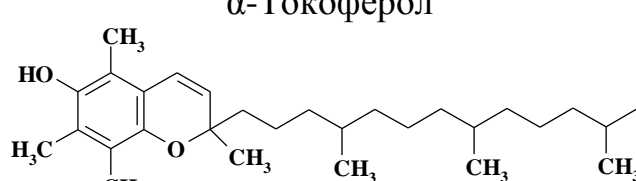


Рисунок. Расчетный и экспериментально полученный графики зависимости потенциала от lg соотношения концентраций  $K_3[Fe(CN)_6]$  и  $K_4[Fe(CN)_6]$  и эквивалентной концентрации  $\alpha$ -токоферола (▲ - экспериментальные значения; ● - расчетные значения).

Результаты определения стехиометрических коэффициентов реакции  $\alpha$ -токоферола с медиаторной системой  $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$  приведены в табл. 1.

Таблица. Стехиометрические коэффициенты  $\alpha$ -токоферола с медиаторной системой  $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$

Исследуемое вещество	АОА 0,01М раствора, моль экв./дм <sup>3</sup>	Коэффициенты реакции (1), a:d
<p><math>\alpha</math>-Токоферол</p> 	0,01	1:1

В табл. 2 представлены результаты исследования антиоксидантной активности 0,01 М и 0,005 М модельных растворов  $\alpha$ -токоферола методом «введено-найдено». Результаты составили величины, близкие к 100%.

Табл. 2. Исследование антиоксидантной активности (АОА)  $\alpha$ -токоферола методом «введено-найдено»

Введено АОА, ммоль экв./дм <sup>3</sup>	Найдено АОА, ммоль экв./дм <sup>3</sup>	Найдено (R),%
10,0	11,0	110
5,0	4,8	96

Предварительные эксперименты показали, что потенциометрический метод применим для липофильных антиоксидантов, установлена принципиальная возможность получения электрохимического отклика в мицеллярной системе. Однако существует ряд проблем (долгое установление равновесия, значительный дрейф потенциала, сильное влияние этанола на потенциал системы, малая растворимость исследуемых веществ в спиртах и др.); требуется дальнейшее развитие потенциометрического метода определения антиоксидантной активности липофильных веществ.

В настоящее время проводятся исследования антиоксидантной активности жирорастворимых соединений в гомогенной системе в различных растворителях (ацетонитрил, диметилформамид, этанол). В качестве медиаторной системы испытываются пары ферроцен/катион феррицена и хинон/гидрохинон, т.к. из литературы известен обратимый характер взаимопревращений в исследуемых парах.

Методами циклической вольтамперометрии и хроноамперометрии изучены электрохимические свойства ферроцена и некоторых гетарилферроценов. Обратимость электрохимического окисления указанных соединений исследована при помощи различных критериев. Для ферроцена и его производных рассчитаны коэффициенты диффузии с использованием уравнения Котрелла: от  $0,58 \cdot 10^{-5}$  до  $0,88 \cdot 10^{-5}$  см/с для производных,  $1,37 \cdot 10^{-5}$  см/с для ферроцена. В электродном процессе принимает участие один электрон. Полученные характеристики производных ферроцена сравнимы с аналогичными параметрами для ферроцена.

Результаты исследования показывают, что наличие гетероциклических фрагментов не влияет на электрохимические свойства гетарилферроценов, что

позволит использовать указанные соединения в качестве медиаторов электронного переноса. Окисление всех изучаемых ферроценов протекает обратимо. Проведенные исследования показали, что полученный химическим/электрохимическим окислением катион феррицена неустойчив и дальнейшая работа будет связана с получением окисленных производных ферроцена.

Исследована электрохимическая обратимость системы хинон/гидрохинон. Из-за изменения рН при введении медиаторной системы в раствор, нернстовская зависимость потенциала системы от концентрации наблюдалась в узком диапазоне концентраций (хинон  $10^{-3}\text{M}$ , гидрохинон от  $0,5 \times 10^{-4}\text{M}$  до  $5 \times 10^{-4}\text{M}$ , соотношение концентрация хинон/гидрохинон от 70:1 до 20:1). Дальнейшая работа будет связана с буферированием в органических средах и с получением нернстовской зависимости потенциала от концентрации в более широком диапазоне концентраций.

Планируемые исследования:

- получение более устойчивого окисленного производного ферроцена для создания медиаторной системы;

- исследование пары хинон/гидрохинон в условиях контролируемого рН, установление возможности применения данной медиаторной системы для анализа антиоксидантов в неводных средах;

- исследование антиоксидантной активности индивидуальных веществ полифенольной природы;

Планируемые результаты:

- разработанная методика для оценки интегральной антиоксидантной активности матриц сложного состава в апротонных средах;

- исследование антиоксидантной активности синтезированных соединений на основе полифенолов как водо-, так и жирорастворимых .